

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-326191
(43)Date of publication of application : 26.11.1999

(51)Int.CI. G01N 21/27
G01N 21/78
// G01N 33/543

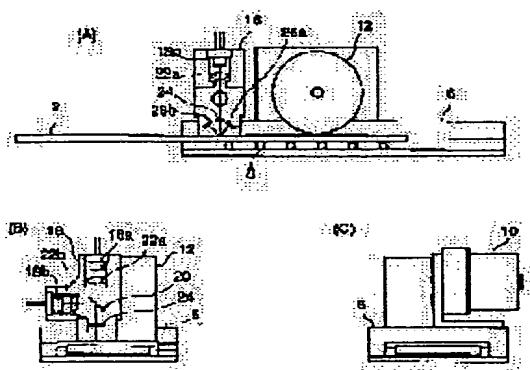
(21)Application number : 10-132881 (71)Applicant : KDK CORP
(22)Date of filing : 15.05.1998 (72)Inventor : NAKA MICHIO

(54) APPARATUS FOR MEASURING COLORING OF TEST PIECE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To quantitatively measure a coloring pattern of a colored test piece in a simple structure.

SOLUTION: A measurement light is irradiated to a test piece moving together with a set plate 2 loading the test piece. A measurement optical system 16 is fixed to a stage 6 so as to detect the reflecting light. The measurement optical system 16 has two laser diodes 18a and 18b of different wavelengths. Luminous fluxes from both laser diodes 18a, 18b irradiate the test piece as measurement lights extending in a direction orthogonal to a sample development direction (x). The test piece moves below the measurement optical system 16, thereby being scanned by the measurement lights in the sample development direction. Reflecting lights of the measurement lights from the test piece are detected by detectors 26a and 26b.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平11-326191

(43)公開日 平成11年(1999)11月26日

(51)Int.Cl.⁶

G 0 1 N 21/27

21/78

// G 0 1 N 33/543

識別記号

5 9 5

F I

G 0 1 N 21/27

A

21/78

A

33/543

5 9 5

審査請求 未請求 請求項の数 7 O.L (全 6 頁)

(21)出願番号

特願平10-132881

(22)出願日

平成10年(1998)5月15日

(71)出願人 000141897

株式会社京都第一科学

京都府京都市南区東九条西明田町57番地

(72)発明者 仲 道男

京都府京都市南区東九条西明田町57番地

株式会社京都第一科学内

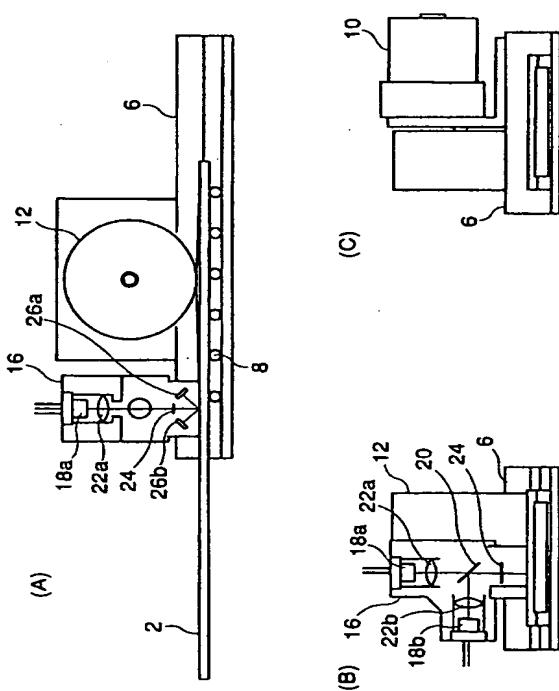
(74)代理人 弁理士 野口 繁雄

(54)【発明の名称】 試験片の呈色測定装置

(57)【要約】

【課題】 簡単な構造で、呈色した試験片の呈色パターンから定量測定を行なう。

【解決手段】 試験片載置プレート2とともに移動する試験片4に測定光を照射し、その反射光を検出するためには、測定光学系16が基台6に固定されている。測定光学系16には波長の異なる2種類のレーザダイオード18aと18bが設けられており、両レーザダイオード18a, 18bからの光束は試料展開方向xに直交する方向に延びた測定光となって試験片4を照射する。試験片4が測定光学系16の下側を移動し、測定光による試験片4上の試料展開方向の走査が実行される。試験片4による測定光の反射光は検出器26aと26bにより検出される。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料が展開して呈色ゾーンが形成されている試験片を載置する試験片載置プレートと、試験片載置プレート上に載置された試験片の試料展開方向と直交する方向に延びた光束断面をもつ測定光を、試験片載置プレート上の試験片に照射する照射光学系及びその測定光による試験片からの光を検出する検出器を備えた測定光学系と、試験片載置プレートと測定光学系の少なくとも一方を試験片の試料展開方向の一直線にそって移動させる走査機構とを備えたことを特徴とする呈色測定装置。

【請求項2】 照射光学系は光源としてレーザダイオードを備え、その発光光束断面の楕円形の長軸方向が測定光の光束断面の長軸方向となっており、集束レンズとスリットにより前記所定形状の測定光とするものである請求項1に記載の呈色測定装置。

【請求項3】 照射光学系は光源として発振波長の異なる2つのレーザダイオードを備え、2波長での測光を行なう請求項2に記載の呈色測定装置。

【請求項4】 2つのレーザダイオードは、試験片の試料又は試料標識色素により一方の発振波長が吸収され、他方の発振波長が吸収されないような2種類が選択されている請求項3に記載の呈色測定装置。

【請求項5】 一方のレーザダイオードはその発光面が試験片載置プレートの表面に対向する方向に配置され、他方のレーザダイオードはその発光面の光軸が試験片載置プレートの表面に平行で試験片の試料展開方向に直交する方向に配置され、前記一方のレーザダイオードからの光束を透過させ、前記他方のレーザダイオードからの光束を反射させて両光束を同一光軸上の光束として試験片に導く反射板を備えた請求項3又は4に記載の呈色測定装置。

【請求項6】 照射光学系は測定光を試験片に対して垂直方向に入射するように配置され、前記検出器は試料展開方向の前方方向への反射光を受光する前方斜め上方の位置と試料展開方向の後方方向への反射光を受光する後方斜め上方の位置の双方に配置されている請求項1から5のいずれかに記載の呈色測定装置。

【請求項7】 測定される試験片がクロマト試験片である請求項1から6のいずれかに記載の呈色測定装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は免疫クロマト（イムノクロマト）試験片などの試験片の呈色度を自動的に測定する装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】試験片を用いる分析方法のうち、例えば免疫クロマト式分析について説明すると、免疫クロマト試験片では、検体（試料）中の抗原（又は抗体）と抗原抗体反応を起こす抗体（又は抗原）が試験片の特定の位

置にあらかじめ帯状に塗布されている。その免疫クロマト試験片に検体を適用した後、展開液により検体中の抗原（又は抗体）を溶出させて試験片に浸透させていくと、試験片に塗布されている抗体（又は抗原）のところで抗原抗体反応により検体中の抗原（又は抗体）がトラップされる。このトラップされた量が検体中のその抗原（又は抗体）の総量であるので、検体中の抗原（又は抗体）を色素で標識しておけば吸光度などの光学的測定により抗原（又は抗体）の総量が測定できる。免疫クロマト分析法は、通常の呈色試験法に比べて極微量まで定量が可能な方法である。

【0003】 検体が展開し呈色した後の免疫クロマト試験片から検体中の特定物質の濃度を自動的に測定するための方法として、呈色した免疫クロマト試験片をイメージセンサにより撮像し、そのイメージセンサの各画素の明度に対応した階調画像の呈色部分の特徴抽出処理により呈色度を求める方法が提案されている（特開平8-34511号公報参照）。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 提案されているようには、イメージセンサを用いて撮像し、画像処理を行なう方法は、装置が大型になり、また高価なものとなる。そこで、本発明は免疫クロマト試験片などのクロマト試験片に限らず、他の試験片にも適用できる測定装置であって、簡単な構造で、呈色した試験片の呈色パターンから定量測定が可能な測定装置を提供することを目的とするものである。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明の呈色測定装置は、試料が展開して呈色ゾーンが形成されている試験片を載置する試験片載置プレートと、試験片載置プレート上に載置された試験片の試料展開方向と直交する方向に延びた光束断面をもつ測定光を、試験片載置プレート上の試験片に照射する照射光学系及びその測定光による試験片からの光を検出する検出器を備えた測定光学系と、試験片載置プレートと測定光学系の少なくとも一方を試験片の試料展開方向の一直線にそって移動させる走査機構とを備えている。

【0006】 本発明では試験片載置プレートと測定光学系を相対的に移動させて測定光により試験片上を走査し、試験片からの光によるパターンを求める。免疫クロマト試験片では、あらかじめ帯状に塗布されている抗体（又は抗原）と検体の抗原（又は抗体）が反応して標識色素による帯状の呈色パターンが生じており、検体中の抗原（又は抗体）の総量は標識色素の帯の幅と吸光度の積、すなわち面積と相関する。また、薄層クロマト試験紙など一般的の試験片の場合には、試料が展開してスポット状の呈色パターンが生じており、試料中の成分濃度はスポットの大きさと吸光度の積、すなわち面積と相関する。したがって、得られた光パターンからその面積を求

めることにより定量できる。

【0007】免疫クロマト試験片では、あらかじめ設けられた抗体（又は抗原）による検出ゾーンが呈色するか否かにより特定の抗原（又は抗体）の有無を判定することができる。一般的試験片の場合には、スポットの位置によりどのような成分が含まれていたかを同定することができる。測定光が試験片の試料展開方向と直交する方向に延びた光束断面をもっているので、その測定光で試験片上を試料展開方向の一直線に沿って一回走査するだけで光パターンを得ることができ、走査機構が簡単なものですむ。測定光の試験片幅方向の長さは必ずしも試験片の呈色パターンの幅と一致している必要はなく、それよりも短かいものであってもよい。また、走査機構は、試験片載置プレートと測定光学系のいずれを移動させてよく、両方を移動させてもよい。

【0008】

【発明の実施の形態】照射光学系は光源としてレーザダイオードを備え、その発光光束断面の楕円形の長軸方向が測定光の光束断面の長軸方向となっており、集束レンズとスリットにより所定形状の測定光とするものであるのが好ましい。光源としてレーザーダイオードを用いた場合、レーザーダイオードの発光は非点収差により光束の断面形状が楕円形となるため、試料展開方向と直交する方向に延びた光束断面の測定光を得るのに好都合である。また、面積の小さい反射光測定においても高い反射光エネルギーを得ることができる。

【0009】反射率測定の再現性や安定性を得るために、二波長測定を行なうのが好ましい。二波長のレーザーダイオードを用いて二波長測定を行なう場合には、2つのレーザーダイオードからの光束を同一光軸上に導き、同時に試験片上を照射するために、一方のレーザーダイオードはその発光面が試験片載置プレートの表面に向ける方向に配置され、他方のレーザーダイオードはその発光面の光軸が試験片載置プレートの表面に平行で試験片の試料展開方向に直交する方向に配置され、一方のレーザーダイオードからの光束を透過させ、他方のレーザーダイオードからの光束を反射させて両光束を同一光軸上の光束として試験片に導く反射板を備えているのが好ましい。ここでは、レーザーダイオードからの光は偏向光であることから、横方向から入射するレーザ光が反射板で全反射される条件に設定されている。

【0010】二波長測定に用いる2つのレーザーダイオードは、試験片の試料又はその標識色素により一方の発振波長が吸収され、他方の発振波長が吸収されないような2種類が選択されているのが好ましい。このようにレーザーダイオードの種類を選択することにより、試料及び標識色素以外の吸収、例えば試験片自体による吸収をバックグラウンドとして補正することができ、より正確な測定を行なうことができる。

【0011】試験片としてはニトロセルロースメンブレ

ンや滤紙などを使用するものが多く、測定光はそのような試験片の表面で散乱するため、照射光学系は測定光を試験片に対して垂直方向に入射させるように配置され、検出器は試料展開方向の前方方向への反射光を受光する前方斜め上方の位置と試料展開方向の後方方向への反射光を受光する後方斜め上方の位置の双方に配置されていいのが好ましい。これにより、受光感度を高めることができる。

【0012】

【実施例】一実施例を図1と図2により説明する。図1(A)は平面図、(B)はその左端面図である。図2(A)は図1(A)のX-X'線位置での断面図、(B)は図1(A)のY-Y'線位置での断面図、(C)は図1(A)の右側面図である。試験片載置プレート2はその表面に試験片4を固定して載置することができ、基台6に設けられた案内部により移動可能に支持されている。試験片載置プレート2の下側には移動を円滑にするためにローラ8が設けられている。試験片載置プレート2は、基台6に固定されたモータ10により回転するドラム12により駆動されて試験片4の試料展開方向xに沿って一直線上を移動することができる。試験片載置プレート2を移動させるために、ドラム12には樹脂製ベルト14が巻きつけられ、そのベルト14の両端が試験片載置プレート2に貼りつられて固定されていることにより、モータ10によるドラム12の回転にともなって試験片載置プレート2が移動する。モータ10、ドラム12及びベルト14より走査機構を構成しているが、走査機構はこのような機構に限らず、ラックとピニオンを用いた機構やブーリとベルトを用いた機構など、種々の機構に置き換えることができる。

【0013】試験片載置プレート2上に載置されて試験片載置プレート2とともに移動する試験片4に測定光を照射し、その反射光を検出するために、測定光学系16が基台6に固定されている。測定光学系16には波長の異なる2種類のレーザーダイオード18aと18bが設けられている。レーザーダイオード18aはその発光面が試験片載置プレート2の表面に対向する方向に配置され、レーザーダイオード18bはその発光面の光軸が試験片載置プレート2の表面に平行で試験片4の試料展開方向に直交する方向に配置されている。2つのレーザーダイオード18aと18bからの光束を同一光軸上に導くために、透明な反射板20が両光束に斜めに交差するように配置され、レーザーダイオード18aからの光束は反射板20を透過し、レーザーダイオード18bからの光束は反射板20で反射されて両光束が同一光軸上に置かれるよう、レーザーダイオード18a、18bと反射板20の位置と方位が設定されている。また、レーザーダイオード18aは、その光束の断面の楕円形の長軸方向が試料展開方向x方向となるように配置され、集光レンズ22aで集光された後に反射板20を透過する。レーザーダイオ

ード18bは、その光束が図2(B)では縦方向に光束断面の楕円の長軸方向がくるように配置されており、集光レンズ22bで集光された後に反射板20で反射される。反射板20を透過したレーザダイオード18aからの光束と反射板20で反射したレーザダイオード18bからの光束が同一光軸上に置かれ、スリット24により試料展開方向xに直交する方向に延びた測定光となって試験片4を照射する。

【0014】試験片4による測定光の反射光を検出するために、試料展開方向の前方方向への反射光を受光する前方斜め上方の位置に配置された検出器26aと、試料展開方向の後方方向への反射光を受光する後方斜め上方の位置に配置された検出器26bが設けられている。

【0015】図に示された状態は試験片載置プレート2が最も外側に引き出された状態であり、この状態は試験片4を装着したり取り外したりする状態である。この状態からモータ10によりドラム12を図2(A)で反時計方向に回転させることにより、試験片載置プレート2が図2(A)で右方向に移動する。その移動にともなって試験片4は測定光学系16の下側を移動し、スリット24を透過した測定光による試験片4上の試料展開方向の走査が実行される。試験片載置プレート2が図2(A)で右端まで移動させられた後、モータ10を逆回転させることにより、図の状態に戻される。そして、試験片4を交換して次の測定が行なわれる。

【0016】本発明で測定を行なう試験片は免疫クロマト試験片などのクロマト試験片に限ったものではないが、いま、免疫クロマト試験片を測定した場合の例を図3により説明する。(A)は検体の展開が完了した状態を概略的に表わす免疫クロマト試験片であり、(B)はその長手方向に沿った断面図である。免疫クロマト試験片4はニトロセルロースメンブレンや滤紙などの材質からなり、長方形状である。免疫クロマト試験片4の一端部には展開液パッド部30が設けられ、他端部には吸収パッド部32が設けられている。展開液パッド部30と吸収パッド部32は吸湿性の材質、例えばスponジ、吸湿性不織布、滤紙などから構成されている。展開液パッド部30と吸収パッド部32との間には検体中の抗原(又は抗体)と反応するそれぞれの抗体(又は抗原)が塗布されて固定化された帯状の検出部34a～34dが設けられている。検出部34a～34dは、免疫クロマト試験片4に蛋白質の非特異的吸着を防止するために、BSAなどでブロッキング処理を施した後、抗体(又は抗原)が塗布されて固定化されたものである。

【0017】検体は、検体中の抗原(又は抗体)を標識する色素とともに展開液に添加されて、展開液パッド部30に滴下される。標識色素は検体中の抗原(又は抗体)と反応する。展開液が免疫クロマト試験片4を浸透することによって、検体中の抗原(又は抗体)と標識色素との結合体や未反応の標識色素は、展開液とともに吸

収パッド部32の方向に向かって移動する。いま、仮に検体中に抗原A、B、Dが含まれており、抗原A、B、Dが検出部34a、34b、34dとそれぞれ抗原抗体反応するものとする。検体が移動するにともなって、検体中の抗原と検出部34a～34dに固定されている抗体とが特異的に反応し、反応した検出部34a、34b、34dに標識色素による帯状のパターンが形成される。展開液中に存在する未反応の標識色素は吸収パッド32に到達する。

【0018】このように検体の展開が完了した免疫クロマト試験片4を図1、図2の測定装置の試験片載置プレート2上に載置し、免疫クロマト試験片4をその展開方向に移動させて測定を行なうと、図3(C)、(D)に示される反射率パターンが得られる。(C)は645nmのレーザ光による反射率パターンを表したものであり、(D)は780nmでの反射率パターンを表したものである。この実施例では、2つのレーザダイオード18a、18bを交互に切り換え、その切換えと同期して検出器26a、26bからの信号を取り込むようにすることにより、共通の検出器26a、26bを用いて波長の異なる2種類の反射光を識別して検出することができる。(C)の645nmでの反射率パターンでの吸収は検体中の測定しようとする抗原と結合した標識色素による吸収であり、(D)の780nmの反射率パターンでの吸収は検出部での標識色素以外のものからの吸収であり、バックグラウンドを構成するものである。(C)の反射率パターンから(D)の反射率パターンの引き算を行なうことによって、バックグラウンド補正のなされた反射率パターンを得ることができる。その反射率パターンの吸収帯の面積は検体中の測定しようとする抗原の量に対応したものである。

【0019】図3の免疫クロマト試験片4は、検体中の複数の抗原(又は抗体)を同時に検出するために複数個の検出部34a～34dを備えているが、1種類の抗原(又は抗体)を検出する場合には検出部は1つでよい。検出部が1つの場合には、その検出部に呈色が形成されるか否かにより目的とする抗原(又は抗体)の有無を判定することができ、その検出部の反射率パターンの面積から定量することができる。また、図3は反射率パターンとして示しているが、定量には吸光度パターンを求めてその面積を算出するようにしてもよい。本発明は、免疫クロマト試験片以外の試験片にも適用することができる。

【0020】

【発明の効果】本発明では試験片の試料展開方向と直交する方向に延びた光束断面をもつ測定光で試験片上を試料展開方向に走査するので、試料展開方向の一直線に沿って一回走査するだけで反射光パターンを得ることができ、走査機構が簡単なものですね。特に、光源としてレーザダイオードを用いた場合には、高い反射光エネルギー

一の光学系を構成することができ、外部迷光に強い測定を行なうことができる。また、レーザダイオードを使用することにより波長純度が高く、高精度の測定を行なうことができる。さらに、分光フィルタなどの分光器が必要であるため、低価格の光学系を構築することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】一実施例を示す図であり、(A)は平面図、(B)はその左端面図である。

【図2】(A)は図1(A)のX-X'線位置での断面図、(B)は図1(A)のY-Y'線位置での断面図、(C)は図1(A)の右側面図である。

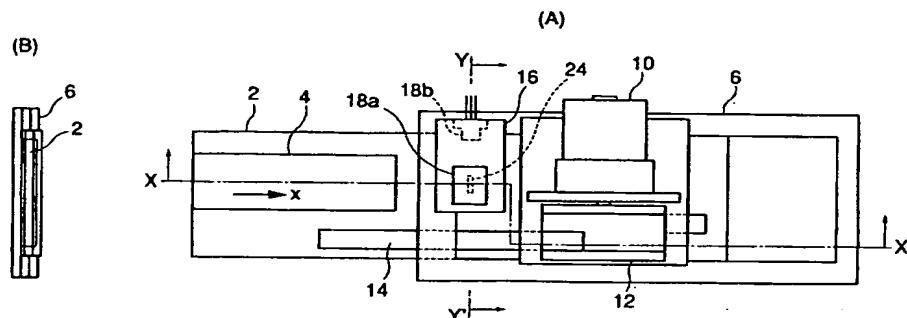
【図3】(A)は検体の展開が完了した状態を概略的に表わす免疫クロマト試験片の平面図、(B)はその長手方向に沿った断面図、(C)は645nmのレーザ光に

よる反射率パターンを表わした図、(D)は780nmでの反射率パターンを表わした図である。

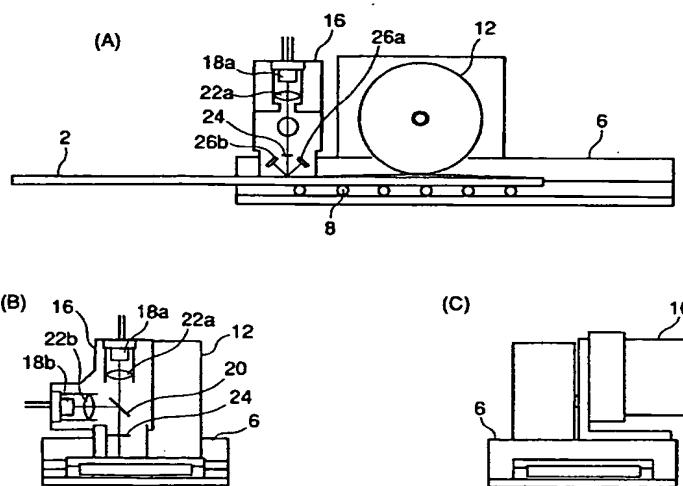
【符号の説明】

2	試験片載置プレート
4	クロマト試験片
6	基台
10	モータ
12	ドラム
14	ベルト
16	測定光学系
18a, 18b	レーザダイオード
20	反射板
22a, 22b	集光レンズ
24	スリット
26a, 26b	検出器

【図1】



【図2】



【図3】

